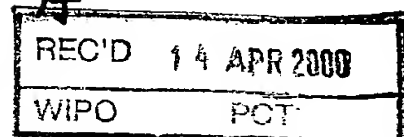


25.02.00

## 日本国特許庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

JP 00/1109



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

Eku

出願年月日  
Date of Application:

1999年 2月26日

出願番号  
Application Number:

平成11年特許願第051216号

出願人  
Applicant(s):

マルハ株式会社  
科学技術振興事業団  
財団法人大阪バイオサイエンス研究所

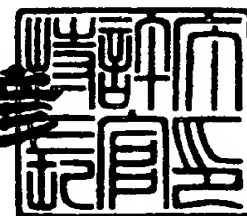
97914319

PRIORITY  
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 3月31日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特2000-3021268

【書類名】 特許願

【整理番号】 P99-0066

【提出日】 平成11年 2月26日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 33/50

【発明の名称】 冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測方法

【請求項の数】 7

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 1 6－2 マルハ株式会社 中央研  
究所内

【氏名】 清木 興介

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 1 6－2 マルハ株式会社 中央研  
究所内

【氏名】 織田 浩司

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 1 6－2 マルハ株式会社 中央研  
究所内

【氏名】 中島 浩

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 1 6－2 マルハ株式会社 中央研  
究所内

【氏名】 佐藤 信行

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市中京区西洞院通蛸薬師下ル古西町 4 4 0  
藤和シティーコーポ 7 0 6

【氏名】 裏出 良博

【発明者】

【住所又は居所】 東京都江戸川区清新町 1－1－6－1 9 0 6

【氏名】 上原 馨志夫

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県浦和市常盤 3-9-9-1106

【氏名】 井上 晃男

【特許出願人】

【識別番号】 000003274

【氏名又は名称】 マルハ株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 396020800

【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

【特許出願人】

【識別番号】 390000745

【氏名又は名称】 財団法人 大阪バイオサイエンス研究所

【代理人】

【識別番号】 100091096

【弁理士】

【氏名又は名称】 平木 祐輔

【選任した代理人】

【識別番号】 100096183

【弁理士】

【氏名又は名称】 石井 貞次

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015244

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9720380

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 体液試料中のL-PGDS濃度を測定することによる冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測方法。

【請求項 2】 冠血管インターベンション施行後の体液試料中のL-PGDS濃度の変化を指標とする請求項1に記載の方法。

【請求項 3】 冠血管インターベンション施行前後の体液試料中のL-PGDS濃度の変化を指標とする請求項1に記載の方法。

【請求項 4】 体液試料中のL-PGDS濃度の測定法を免疫学的測定法に基づいて行う請求項1から 3 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 5】 体液試料が血液または尿である請求項1から 3 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 6】 体液試料が冠血管から採取した血液または末梢血である請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】 冠血管インターベンションが経皮経管的冠動脈形成術（Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty: PTCA）、方向性アテレクトミー冠動脈形成術（Directional Coronary Atherectomy: DCA）、吸引型アテレクトミー冠動脈形成術（Transluminal Extraction Catheter: TEC）、回転型アテレクトミー冠動脈形成術（ローターブレター）、エキシマレーザー冠動脈形成術、冠動脈内ステント術、である請求項1から3のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、体液試料中のヒトリポカリン型プロスタグランジンD合成酵素（以下L-PGDSとする）濃度を測定することによる冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測方法に関し、更に詳しくは、冠血管インターベンション施行後の再狭窄を体液試料中のL-PGDS濃度の変化を指標として予測する方法に関するものである。

## 【0002】

## 【従来の技術】

狭心症などの冠血管に狭窄をきたす虚血性心疾患の治療には、薬物療法、冠動脈バイパス術や冠血管インターベンションがある。

薬物療法は狭心症に対する基本的な治療法で、心筋の虚血状態を改善することを目的として使用される。その作用機序は2つに分けられ、1つは、冠動脈を拡張し心筋への血流を改善するもので（亜硝酸など）、もう1つは心拍数・血圧を低下させ、心筋の酸素消費量を低減することにより発作を防止するものである（ $\beta$ 遮断剤など）。一方、冠動脈バイパス術は狭窄部位に対して、新たに大動脈と冠動脈の狭窄部末梢とを結ぶ血管を新設し、冠動脈の血行を再建する方法である。

## 【0003】

また、冠血管インターベンションは血管内カテーテルを大腿部動脈から挿入し、狭窄部位にまで進行させ、局所における物理的な処置により血流を確保させる方法である。冠血管インターベンションでは様々なデバイスが用いられる。経皮経管的冠動脈形成術（以下PTCAと略す）は、血管内にバルーンカテーテルを挿入し、狭窄部位においてこれを膨脹させることによって、狭窄部位を拡張し、正常な血流を回復させる方法である。また冠動脈内ステント術は、金属製の金網状の管をカテーテルにより狭窄部位に植え込み、冠動脈の内腔を支えることによって正常な血流を確保する方法である。

## 【0004】

上記のように、冠血管インターベンションは開胸といった外科手術を伴わないため、1977年GruentigがPTCAに成功して以来、欧米はもとよりわが国でも急速に普及した。初期はその適用が限局的な1枝病変を有する安定狭心症のみであったが、その後、1枝病変から多枝病変、完全閉塞病変にまで適用され、今日では虚血性心疾患に対して確立された治療法の一つとなっている。しかしながら、PTCAは術後早期に発生する急性及び亜急性血栓性閉塞と、3～4か月以内に30～40%の確率でおこる再狭窄の発生という重大なウィークポイントを有していた（Nobuyoshi, M. et al. (1988) Am. Coll. Cardiol. 12: 616-623）。

この内、早期に発生する急性及び亜急性血栓性閉塞に関しては、デバイスに冠動脈内ステントを用い、加えてアスピリン、チクロピジンの併用、という処方が既に標準的な予防方法として確立している (Lincoff, A. M. et al. (1993) J. Am. Coll. Cardiol. 21: 866-875)。

## 【 0 0 0 5 】

一方、再狭窄の問題に解決の糸口を示したのも、冠動脈内ステントの開発であった。本デバイスによるインターベンション後の再狭窄率は、バルーンによるPTCAに比べ20～30%に低減された。その後各種ステントの出現により再狭窄率は著しく減少したものの、再狭窄を完全に防止するには至っていない (Fishman, D. L. et al. (1994) N. Engl. J. Med. 331: 496-501; Serruys, P. W. et al. (1994) N. Engl. J. Med. 331: 489-501)。

そこで、このようなデバイスの改良とともに、薬剤投与による予防も試みられている。

## 【 0 0 0 6 】

再狭窄は新生内膜の増生とともに、冠血管インターベンションにより生じた内膜の傷害に対して血小板が集積し、血小板由来増殖因子等が産生されることが引き金になることから、抗血小板剤の効果が期待された。しかしながら、アスピリン、ジピリダモール、チクロピジンのいずれも再狭窄率を低下させることはできなかった。また血小板由来増殖因子の拮抗剤であるトラピジールも効果はなく、抗凝固剤であるヘパリン、ワーファリンも予防効果は認められなかった。また、冠血管攣縮性狭心症では再狭窄率が高いことが報告されており、再狭窄と冠血管攣縮の因果関係から、カルシウム拮抗剤の効果も予想されたが、ジルチアゼム、ニフェジピンのいずれも有効ではなかった (「動脈硬化」 (メディカル葵出版社) p122)。

## 【 0 0 0 7 】

この様な状況の中、最近再狭窄に対しその効果が認められつつある薬剤も出現してきた。ケロイド治療薬として処方されていた抗アレルギー剤であるトラニラストや抗血小板剤のシロスタゾールでPTCA後の成績が良好との報告がなされており、基礎的研究が現在進行中である (石綿(1996)興和医報Vol.39, No. 3 :

27-33; Tamal H. et al.(1994)Circulation 90:I-652; 勝木ら(1998)Medicina 35:659-661)。いずれもまだ大規模な臨床試験が行われていないが、これら薬剤を含め、将来的に効果的な薬剤の出現が確実視されている。

従って、再狭窄を早期に予測できれば、薬剤の工夫により効果的な予防策を採ることが可能となるため、冠血管インターベンション施行後の再狭窄の早期予測方法が以前から囑望されていたが、冠血管インターベンション施行後の再狭窄は無症候性に出現することが多いため、早期予測は容易ではない。

【0008】

最近再狭窄に関与する様々な因子が研究され、そのメカニズムとの関係が検討されている。血中アンギオテンシン変換酵素濃度はステント留置後の内膜増殖量と相関することから、再狭窄を予測する指標としての可能性が示唆されている（Ohishi(1995)Hypertension 26: 561）。また、PTCA後の再狭窄の発現には収縮性リモデリングが関与しているとの仮説のもと、強力な血管収縮作用を有する血管作動物質であるエンドセリン（以下ETとする）についての検討も行われている。土肥らは、PTCA前・後・3ヶ月後の冠動脈におけるET濃度の測定により、有意狭窄の認められた群は有意狭窄を認められなかった群と比較して変化の度合いが大きいことを明かとし、冠循環で増加したETが、PTCA後の冠動脈再狭窄のメカニズムに重要な役割を果たしていることを示唆する臨床データを報告した（Journal of Cardiology vol.32 Supplement I: P391）。血小板由来増殖因子もPTCA傷害後の修復過程の関与から、再狭窄の予測因子としての可能性が示唆されている（羽尾ら(1993)Journal of Clinical and Experimental Medicine 167 No6 pp512）。成子らは再狭窄病変部位におけるナトリウム利尿ペプチド系の発現についての検討を行い、再狭窄新生内膜にC型ナトリウム利尿ペプチド、ナトリウム利尿ペプチドA受容体、ナトリウム利尿ペプチド・クリアランス受容体の発現を認めた（Journal of Japan Atherosclerosis society vol.25 Supplement 1998:140）。

【0009】

しかしながら、ETを除き、いずれの物質に関しても再狭窄のメカニズムとの関与を示唆するデータに過ぎず、冠血管インターベンション施行後早期に再狭窄を



予測するような臨床的知見は得られていない。また、ETに関しても長期にわたる濃度変動を追跡せねばならないため、早期予測という観点では実用的ではないのが現状である。

さらに、装置を用いた再狭窄予測方法に関してもいくつか検討がなされている。PTCA時の冠循環動態の内、冠動脈閉塞時の側副血流量比〔 $(QC/QN)_{max}$ =冠動脈楔入圧/平均動脈圧〕即ち、PTCA時のバルーン拡張による冠動脈閉塞時の側副血行をPTCA終了時に測定し、その後の再狭窄との関係を検討した結果、 $(QC/QN)_{max}$ の程度と再狭窄は密接に関連することが報告されている (Journal of Cardiology vol.32 Supplement I : P393)。

【 0 0 1 0 】

また、菊池らは、冠血管インターベンション施行後の安静時12誘導心電図での冠血管インターベンション施行前、施行翌日、施行後近接期 (5~24日)、慢性期 (69~204日) におけるQTd、QTcdの推移が再狭窄を予測する指標になりうることを示した (Journal of Cardiology vol.32 Supplement I : P394)。

しかし、 $(QC/QN)_{max}$ は心臓カテーテル法を伴うため侵襲的であること、一方、QTd、QTcdの推移は判定までにかかなりの期間を要することから、早期の予測としては適切ではない。

【 0 0 1 1 】

上記の通り、冠血管インターベンション施行後の再狭窄を簡易的・非侵襲的に且つ早期に予測する方法について種々検討されているものの、こうした課題を克服した優れた予測方法は未だ報告されていない。

一方、本発明者等は、狭心症患者の最大心静脈血および末梢血中L-PGDS濃度が健常者のそれよりも有意に高いことから、L-PGDSの濃度を指標として虚血性疾患の検出および予知が可能であることを見出し、また、PTCA施行後の最大心静脈血中L-PGDS濃度が回復段階では健常者のレベルまで低下することから、狭心症のPTCA施行後の予後管理、すなわちPTCAによる狭窄の解除が良好であるかどうかの判断が可能であることを見出した (wo98/49559号)。しかしながら冠血管インターベンション施行後の再狭窄との関連性については未検討であった。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、冠血管インターベンション施行後に発生しうる再狭窄を、簡易的・非侵襲的に且つ早期に予測する方法であって、高齢者、腎疾患患者など、冠血管造影が困難な患者にも負担のない優れた方法を提供することである。

【0013】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の課題を解決するために、L-PGDS濃度が再狭窄の予測因子となり得るかどうかについて鋭意検討した。具体的には、冠血管インターベンション施行後の体液試料中のL-PGDS濃度を追跡し、再狭窄との関係を検討した。その結果、冠血管インターベンション施行後、または前後の体液試料中のL-PGDS濃度の変化は、①術後一旦低下し、以降48時間後まで上昇、②術後一旦低下し、以降48時間後までほとんど変化しない、という2つのタイプに分かれ、このタイプ分けによって後に再狭窄を起こす群と起こさない群が分類できることを見出した。すなわち、術後早期に体液試料中のL-PGDS濃度の上昇が認められない症例では数カ月後に再狭窄が発生し、一方L-PGDS濃度の上昇が認められた症例では再狭窄が発生しないことが明らかとなった。従って、体液試料中のL-PGDS濃度の変化を追跡することにより、冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測を可能とするに至った。

即ち本発明は、体液試料中のL-PGDS濃度を冠血管インターベンション施行後、またはその前後に測定し、その値の変化を指標とすることを特徴とする冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測方法である。

【0014】

以下本発明を詳細に説明する。

冠血管インターベンションとしては、経皮経管的冠動脈形成術 (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty: PTCA)、方向性アテレクトミー冠動脈形成術 (Directional Coronary Atherectomy: DCA)、吸引型アテレクトミー冠動脈形成術 (Transluminal Extraction Catheter: TEC)、回転型アテレクトミー冠動脈形成術 (ローターブレター)、エキシマレーザー冠動脈形成術、冠動脈

内ステント術など、いずれも再狭窄発生の可能性を有するものが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【 0 0 1 5 】

本発明において、L-PGDSを測定する試料は、被験者から採取した体液試料であり、具体的には、血液、尿等が挙げられる。

上記体液試料中のL-PGDS濃度を測定する方法としては、L-PGDS濃度を正確に反映する測定法であれば特に限定はされず、免疫学的測定方法、酵素活性測定法が挙げられる。しかしながら、実際の臨床現場において、簡便かつ多量の試料を同時に測定する必要性の観点から、L-PGDSに特異的なモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体を用いたEIA、ELISA、RIA、FIA等の免疫学的測定方法によるのが好適である。

【 0 0 1 6 】

上記の免疫学的測定方法のうち、特に、L-PGDS特異的モノクローナル抗体を使用したサンドイッチELISA法が好ましい。該モノクローナル抗体としては、具体的には、ハイブリドーマ細胞株1B7 (FERM BP-5709)、7F5 (FERM BP-5711)、6F5 (FERM BP-5710)、9A6 (FERM BP-5712)、10A3 (FERM BP-5713) より産生される抗体が挙げられる。

サンドイッチELISA法による測定に際しては、既に本発明者らにより確立されている、上記モノクローナル抗体を含むL-PGDS検出キットを利用すればよい (wo 97/16461号参照)。

本発明においては、上記手段で測定されたL-PGDS濃度測定値を指標として冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測をすることができる。

【 0 0 1 7 】

冠血管インターベンション施行後の再狭窄を予測するには、上記手段で測定した被験者の体液試料中のL-PGDS濃度測定値の冠血管インターベンション施行後、または冠血管インターベンション施行前後の経時変化を追跡する。具体的には、冠血管インターベンション施行後のL-PGDS濃度が早期、すなわち48時間までにほとんど上昇しないものを陽性と判定することによって行うことができる。ここで、ほとんど上昇しないとは、冠血管インターベンション施行後の2ポイント、ま

たは施行前後の2ポイント、すなわち、例えば施行直前と施行後48時間後の2ポイントにおける体液試料中のL-PGDS濃度の比率が一定の比率を超えないことを言う。濃度変化をみる方法として、インターベンション直前と24時間後、直後と24時間後、直後と48時間後、24時間後と48時間後の濃度比較または濃度変化パターンなどによっても判定が可能であり、経時での濃度変化がわかる方法であれば良く、特に限定されない。

【0018】

【実施例】

以下、本発明を実施例により更に詳細に説明するが、本発明の範囲はこれら実施例に何等限定されるものではない。

【実施例 1】 PTCA施行後の冠血管血中L-PGDSの経時的測定-1

狭心症左前下降枝一枝病変例でPTCA前後に経時的（PTCA前、PTCA直後、PTCA24時間後、PTCA48時間後の4ポイント）に冠血管より採取した血液について、L-PGDS濃度を2抗体サンドイッチELISA法により測定した。

【0019】

(1) 標準曲線の作成

L-PGDSと結合可能な抗L-PGDSモノクローナル抗体（クローン：7F5）を50mM炭酸緩衝液（pH 9.6）に4.4 $\mu$ g/mlになるように希釈し、96ウエルマイクロタイタープレートに300 $\mu$ l/ウエルずつ加えて、4℃で一晩放置し固相化した。このプレートをリン酸緩衝生理食塩水（pH 7.4、以下PBS）で3回洗浄した後、0.2%カゼインを含むPBS（pH 7.4、以下ブロッキング液）を300 $\mu$ l/ウエル加えて30℃で90分インキュベートし、ブロッキングを行った。

【0020】

次いで、ブロッキング後のプレートを0.05%Tween20を含むPBS（以下T-PBS）で3回洗浄した後、100 $\mu$ lの標準L-PGDS溶液（脳脊髄液より純化したL-PGDSをブロッキング液で段階希釈することにより調製）を各ウエルに加え、30℃で90分間インキュベートした。反応後、T-PBSで3回洗浄し、ブロッキング液で0.5 $\mu$ g/mlになるように希釈した西洋ワサビペルオキシダーゼ標識化抗PGDSモノクローナル抗体（クローン：1B7）100 $\mu$ lを各ウエルに加え、30℃で90分間インキュベートし

た。T-PBSで3回洗浄した後、発色液（ABTS solution：ベーリンガー・マンハイム社製）100  $\mu$ lを各ウェルに加え、30℃で30分間インキュベートした後、停止液（1.5%シュウ酸）を100  $\mu$ lずつウェルに加え、プレートミキサーで攪拌して反応を停止させた。市販のプレートリーダー（型番 Sk601、生化学工業社製）により405nmと490nmにおける吸光度の差（A405nm-A490nm）を測定し、標準曲線を作成した。

#### 【0021】

上記サンドイッチELISA法に用いたモノクローナル抗体（クローン：1B7、7F5）は、マウス腹腔内にプリスタン1.0mlを注射し、その後2週間目にそれぞれの抗体産生細胞株を $1 \times 10^8$ 個マウスの腹腔内に移植し、2週間後に腹水を採取し、得られた腹水をプロテインAアフィニティーカラムクロマトグラフィー操作にかけることにより得た（3～10mg/ml）。

尚、上記モノクローナル抗体を産生する細胞株はそれぞれ上記モノクローナル抗体名に一致し、それぞれの細胞株は、工業技術院生命工学工業技術研究所（日本国茨城県つくば市東1丁目1番3号）に、1B7についてはFERM BP-5709（原寄託日平成7年9月21日）、7F5についてはFERM BP-5711（原寄託日平成8年6月6日）として寄託されている。

#### 【0022】

##### (2) 体液試料中のL-PGDS濃度の測定

採取した血液をブロッキング液で適宜希釈して、上記のサンドイッチELISA法に従ってL-PGDS濃度の測定を行った。

一方、被験者24例を再狭窄を起こした症例群（n=10）と再狭窄を起こさなかった症例群（n=14）とに分類した。なお、再狭窄の判定はPTCA施行後3ヶ月後のCAM-1000（PSP Corp社製）を用いたquantitative coronary angiography（QCA）により行い、50%狭窄率以上を有意狭窄を有する群とした。各群における血中L-PGDS濃度の経時変化をみると、2群間で異なった変動パターンを示すことが明らかとなった（図1）。即ち、再狭窄が認められなかった群は、PTCA施行直後には一旦低下するが、その後24時間、48時間と経時的に血中L-PGDSの濃度が増加する傾向を見せた。対して、再狭窄が認められた群では、PTCA施行直後には一旦低下し、

その後ほとんど増加する傾向はなく、2群の間で明らかに統計的有意差が認められた。

#### 【 0 0 2 3 】

また、24例全てについて、PTCA48時間後の血中L-PGDS濃度 (A) とPTCA前の血中L-PGDS濃度 (B) の比率 (A/B) を求め、その値を上記判定基準により分類された2群について比較した。その結果、再狭窄の認められなかった群の比率 (A/B) は  $1.22 \pm 0.31$  (平均値  $\pm$  標準偏差、以下同じ)、再狭窄の認められた群の比率は  $1.01 \pm 0.09$  で、両群間には統計的に有意差が認められた ( $P < 0.005$ )。同様に、PTCA24時間後の血中L-PGDS濃度 (C) とPTCA前の血中L-PGDS濃度 (B) との比率 (C/B) は、再狭窄の認められなかった群で  $1.06 \pm 0.12$ 、再狭窄の認められた群で  $1.00 \pm 0.10$ 、PTCA48時間後の血中L-PGDS濃度 (A) とPTCA直後の血中L-PGDS濃度 (D) との比率 (A/D) は、再狭窄の認められなかった群で  $1.42 \pm 0.28$ 、再狭窄の認められた群で  $1.04 \pm 0.13$ 、PTCA24時間後の血中L-PGDS濃度 (C) とPTCA直後の血中L-PGDS濃度 (D) との比率 (C/D) は、再狭窄の認められなかった群で  $1.26 \pm 0.23$ 、再狭窄の認められた群で  $1.02 \pm 0.12$ 、PTCA48時間後の血中L-PGDS濃度 (A) とPTCA24時間後の血中L-PGDS濃度 (C) との比率 (A/C) は、再狭窄の認められなかった群で  $1.14 \pm 0.18$ 、再狭窄の認められた群で  $1.02 \pm 0.09$  で、いずれのポイントでの濃度比においても、2群間で有意な差が認められた。

#### 【 0 0 2 4 】

〔実施例 2〕 PTCA施行後の冠血管血中L-PGDSの経時的測定-2

狭心症左前下降枝一枝病変例10例で、PTCA前後 (PTCA前、PTCA48時間後の2ポイント) に冠血管より採取した血液について、L-PGDS濃度を2抗体サンドイッチELISA法により測定した。次いで上記10症例を実施例1で示したPTCA48時間後の血中L-PGDS濃度とPTCA前の血中L-PGDS濃度の比率の値で分類し、比率が1.10 (再狭窄の認められた群の平均  $\pm$  標準偏差) を超えるものを血中濃度の上昇が認められた群とし、それ以下は変動が認められなかった群とした。結果を図2に示す。

#### 【 0 0 2 5 】

図2に示すように、PTCA前後で血中L-PGDS濃度が上昇する例は6例 (図中丸印)、上昇しない例は4例 (図中四角印) であった。各被験者に関して、実施例1と

同様の方法で術後 3 ヶ月後に再狭窄の判定を行ったところ、L-PGDS濃度が上昇した6例のうち1例 (16.7%) が有意狭窄を有し (図中黒塗り)、また、L-PGDS濃度が上昇しなかった4例の内3例 (75%) が有意狭窄を有しており、両群の間では再狭窄の発生率に差が認められた。

【 0 0 2 6 】

【実施例 3】 PTCA施行後の末梢血中L-PGDSの経時的測定-3

狭心症左前下降枝一枝病変例でPTCA前後に経時的 (PTCA前、PTCA直後、PTCA24時間後、PTCA48時間後の 4 ポイント) に末梢より採取した血液について、L-PGDS濃度を2抗体サンドイッチELISA法により測定した。

一方、被験者24例を実施例 1 と同様、再狭窄を起こした症例群 (n=10) と再狭窄を起こさなかった症例群 (n=14) とに分類した。再狭窄の判定は実施例 1 に記されている方法に準じた。各群におけるL-PGDS濃度の経時変化をみると、2 群間で異なった変動パターンを示すことが明らかとなった (図 3)。即ち、再狭窄が認められなかった群は、PTCA施行直後には一旦低下するが、その後24時間、48時間と経時的に血中L-PGDSの濃度が増加する傾向を見せた。対して、再狭窄が認められた群では、PTCA施行直後には一旦低下し、その後ほとんど増加する傾向はなく、冠血管血において認められた傾向と同様、2群の間で明らかに統計的有意差が認められた。

【 0 0 2 7 】

実施例 1 と同様に、24例全てについて、PTCA48時間後の血中L-PGDS濃度 (A) とPTCA前の血中L-PGDS濃度 (B) の比率 (A/B) を求め、その値を上記判定基準により分類された2群について比較した。その結果、再狭窄の認められなかった群の比率 (A/B) は $1.23 \pm 0.29$ 、再狭窄の認められた群の比率は $1.03 \pm 0.14$ で、両群間には統計的に有意差が認められた ( $P < 0.005$ )。同様に、PTCA24時間後の血中L-PGDS濃度 (C) とPTCA前の血中L-PGDS濃度 (B) との比率 (C/B) は、再狭窄の認められなかった群で $1.10 \pm 0.16$ 、再狭窄の認められた群で $1.02 \pm 0.15$ 、PTCA48時間後の血中L-PGDS濃度 (A) とPTCA直後の血中L-PGDS濃度 (D) との比率 (A/D) は、再狭窄の認められなかった群で $1.32 \pm 0.35$ 、再狭窄の認められた群で $1.08 \pm 0.14$ 、PTCA24時間後の血中L-PGDS濃度 (C) とPTCA直後の血中L-PGDS濃度 (D) との比

率 (C/D) は、再狭窄の認められなかった群で $1.17 \pm 0.20$ 、再狭窄の認められた群で $1.07 \pm 0.16$ 、PTCA48時間後の血中L-PGDS濃度 (A) とPTCA24時間後の血中L-PGDS濃度 (C) との比率 (A/C) は、再狭窄の認められなかった群で $1.11 \pm 0.13$ 、再狭窄の認められた群で $1.02 \pm 0.07$ で、いずれのポイントでの濃度比においても、2群間で有意な差が認められた。

## 【0 0 2 8】

## 〔実施例 4〕 PTCA施行後の末梢血中L-PGDSの経時的測定-4

狭心症左前下降枝一枝病変例12例で、PTCA前後 (PTCA前、PTCA48時間後の2ポイント) に末梢より採取した血液について、L-PGDS濃度を2抗体サンドイッチELISA法により測定した。次いで上記12症例を実施例3で示したPTCA48時間後の血中L-PGDS濃度とPTCA前の血中L-PGDS濃度の比率の値で分類し、比率が1.17 (再狭窄の認められた群の平均+標準偏差) を超えるものを血中濃度の上昇が認められた群とし、それ以下は変動が認められなかった群とした。結果を図4に示す。

## 【0 0 2 9】

図4に示すように、PTCA前後で血中L-PGDS濃度が上昇する例は7例 (図中丸印)、上昇しない例は5例 (図中四角印) であった。各被験者に関して、実施例1と同様の方法で術後3ヶ月後に再狭窄の判定を行ったところ、L-PGDS濃度が上昇した7例のうち2例 (28.6%) が有意狭窄を有し (図中黒塗り)、また、L-PGDS濃度が上昇しなかった5例の内4例 (80%) が有意狭窄を有しており、両群の間では再狭窄の発生率に差が認められた。

以上の結果から、冠血管インターベンション施行後、または前後の血中L-PGDS濃度の変化の程度を検出することにより、再狭窄を予測し得ることが明らかとなった。

## 【0 0 3 0】

## 【発明の効果】

冠血管インターベンション施行後に再狭窄が発生した場合、これを治療するためには再度冠血管インターベンションを行わねばならず、患者に対して経済的、肉体的負担が大きい。本発明によれば、現在侵襲的にしか診断できない再狭窄を、非侵襲的に、簡便に且つ早期に予測することが可能となり、現在試みられてい



る薬剤による予防をより効果的に進めることが可能となる。また、高齢者、腎疾患患者など、冠血管造影が困難な患者においても本発明を用いることにより、患者に対する負担を軽減した再狭窄の予測が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

図 1 は、PTCA施行後の冠血管血中L-PGDS濃度の変化を示すグラフである。

【図 2】

図 2 は、PTCA施行前後の冠血管血中L-PGDS濃度の変動と再狭窄の関係を示すグラフである。

【図 3】

図 3 は、PTCA施行後の末梢血中L-PGDS濃度の変化を示すグラフである。

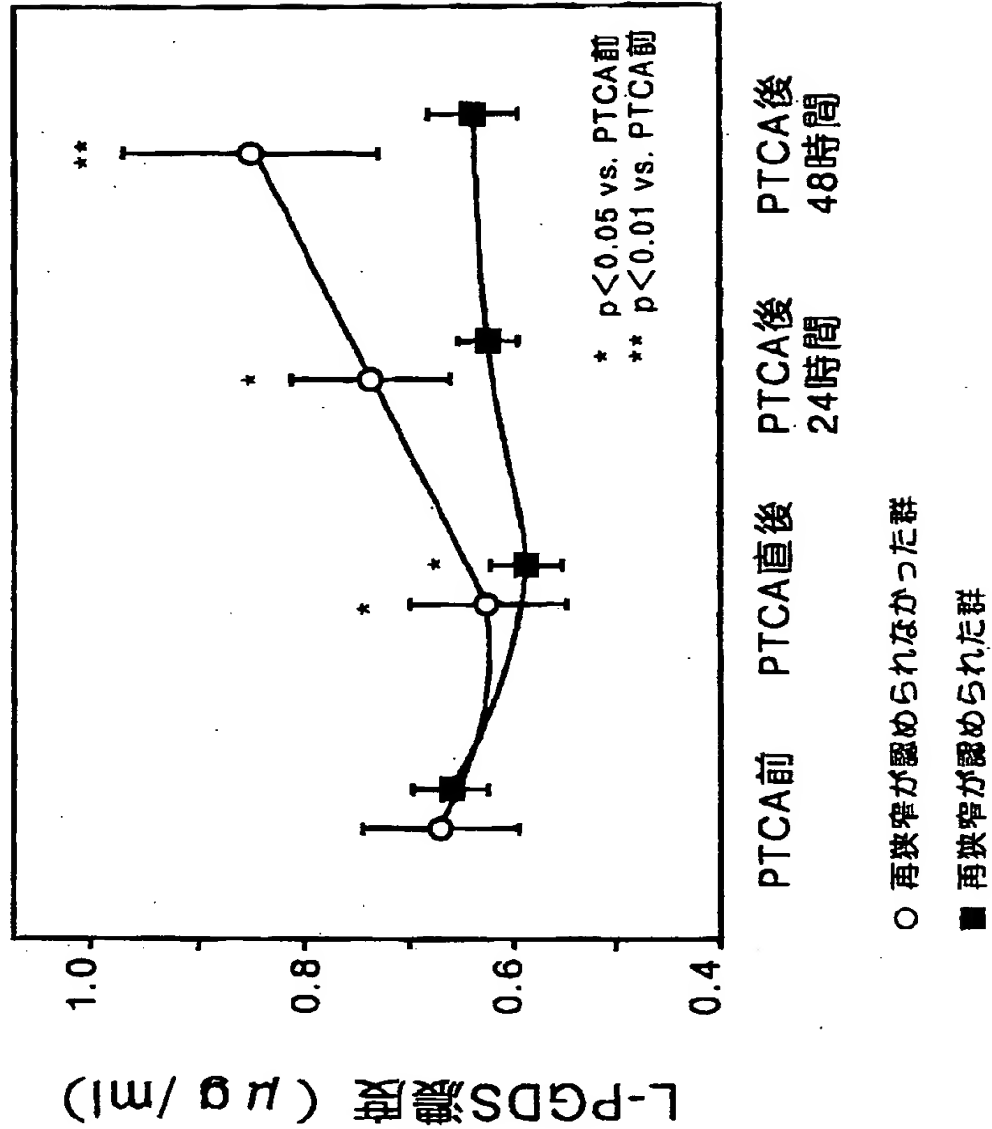
【図 4】

図 4 は、PTCA施行前後の末梢血中L-PGDS濃度の変動と再狭窄の関係を示すグラフである。

【書類名】 図面

【図 1】

図 1. PTCA施行後の冠血管血中L-PGDS濃度の変化



【図2】

図2. PTCA施行前後の冠血管血中L-PGDS濃度  
の変動と再狭窄の関係

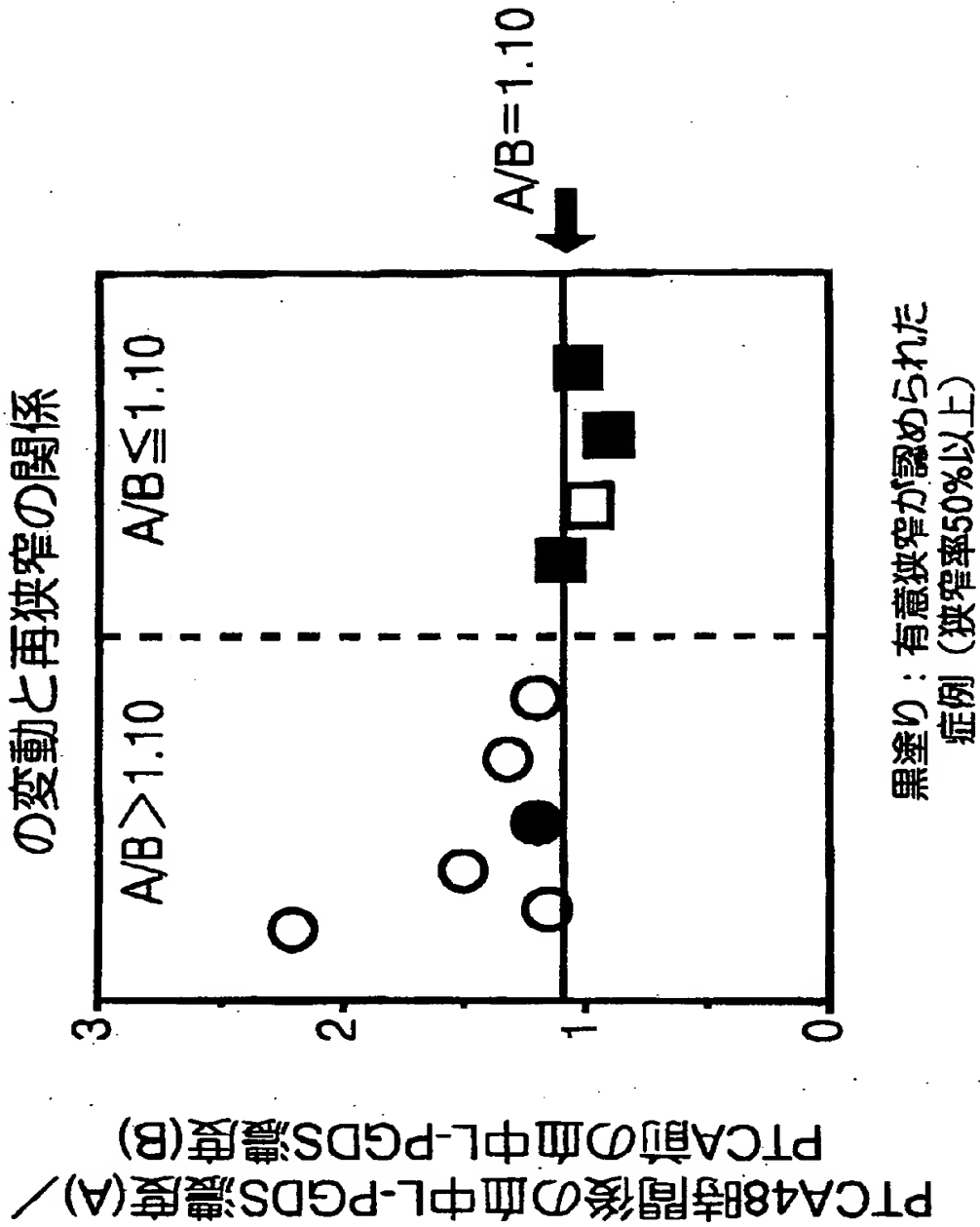
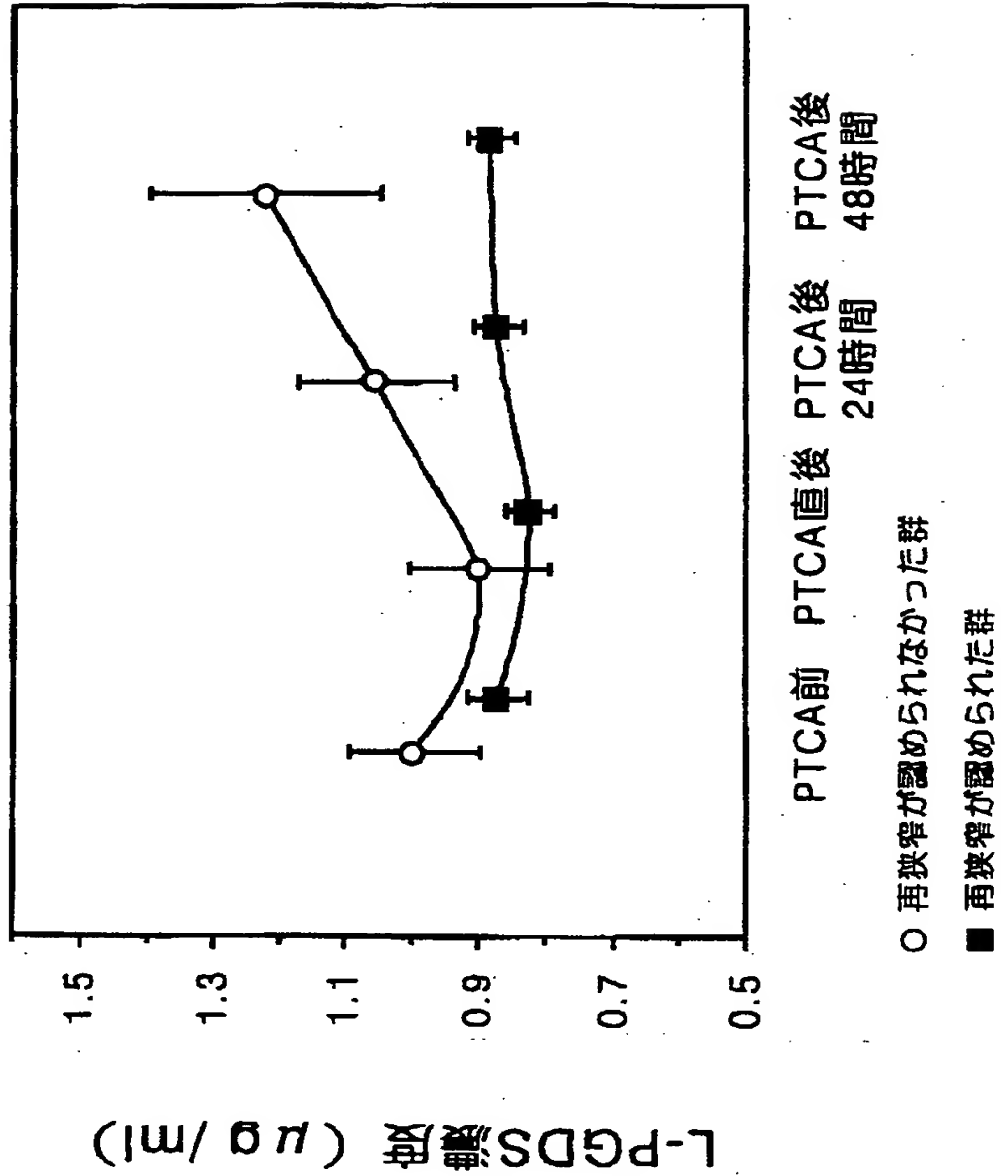


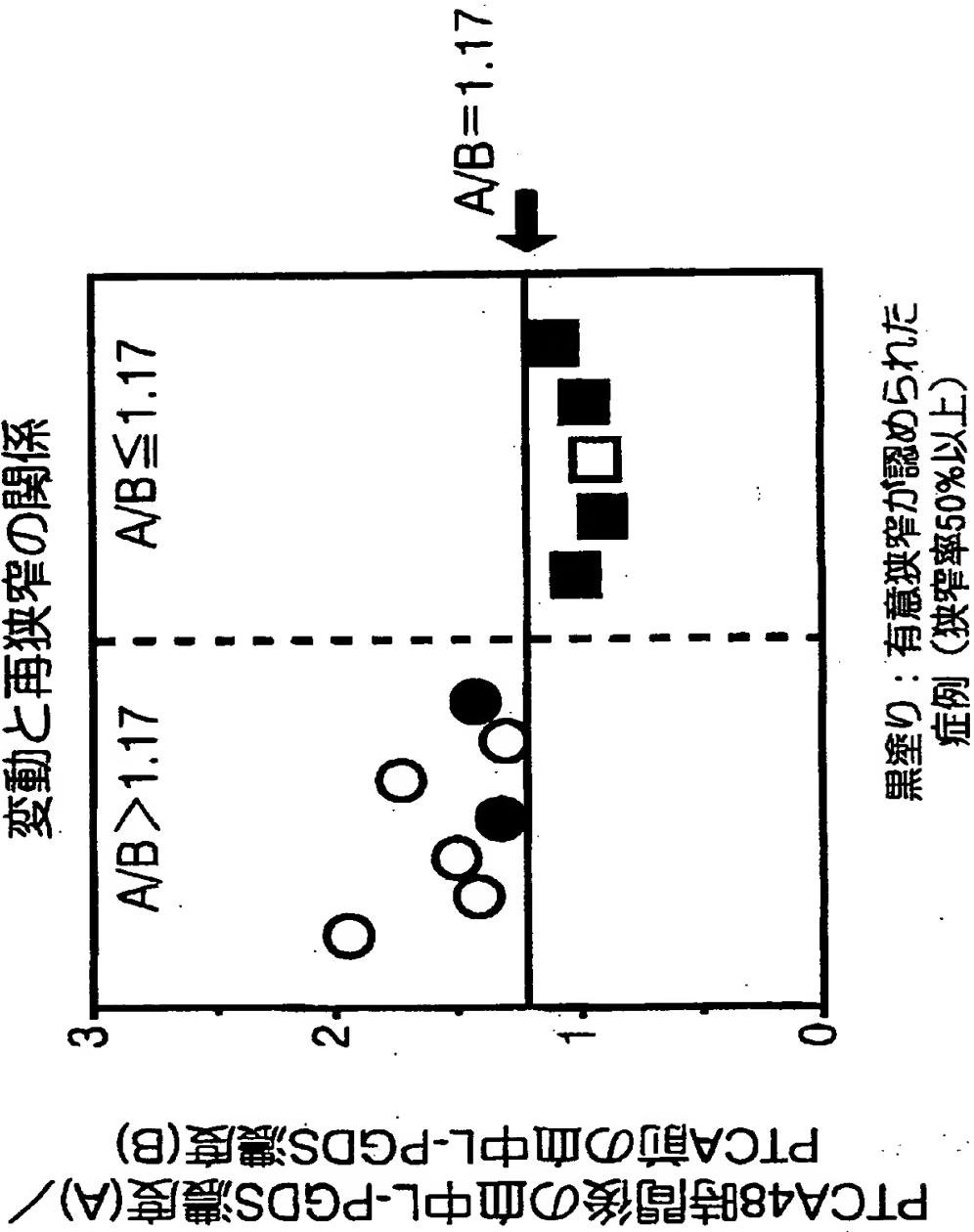
図 3. PTCA施行後の末梢血中L-PGDS濃度の変化

【図 3】



【図 4】

図4. PTCA施行前後の末梢血中L-PGDS濃度の  
変動と再狭窄の関係



【書類名】 要約書

【要約】

【目的】 体液試料中ヒトリポカリン型プロスタグランジンD合成酵素（以下L-PGDSとする）の測定による冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測方法を提供する。

【解決手段】 体液試料中L-PGDS濃度を測定し、その変化を指標とすることによる、冠血管インターベンション施行後の再狭窄の予測方法を提供する。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000003274]

1. 変更年月日	1993年10月 7日
[変更理由]	名称変更
住 所	東京都千代田区大手町1丁目1番2号
氏 名	マルハ株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [396020800]

1. 変更年月日 1998年 2月24日  
[変更理由] 名称変更  
住 所 埼玉県川口市本町4丁目1番8号  
氏 名 科学技術振興事業団



出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [390000745]

1. 変更年月日 1990年 9月21日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 大阪府吹田市古江台6丁目2番4号  
氏 名 財団法人大阪バイオサイエンス研究所

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**